



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Livmodermorfologi hos tik i relation till klinisk data

**Uterine morphology in the bitch
in relation to clinical data**

Mimmi van Rooijen

*Uppsala
2019*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

Livmodermorfologi hos tik i relation till klinisk data

Uterine morphology in the bitch in relation to clinical data

Mimmi van Rooijen

Handledare: Fredrik Södersten, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Biträdande handledare: Ragnvi Hagman, institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Karin Vargmar, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0869

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Pyometra, cystisk endometriehyperplasi, peritonit, C-reaktivt protein, leukocytpartikelkoncentration, tik

Key words: Pyometra, cystic endometrial hyperplasia, peritonitis, C-reactive protein, leukocyte particle concentration, bitch

SAMMANFATTNING

Pyometra och cystisk endometriehyperplasi är två vanligt förekommande patologiska tillstånd i livmodern som främst drabbar medelålders till äldre, okastrerade tikar. Pyometra utvecklas ofta till en systemisk sjukdom som kan leda till allvarliga komplikationer och har i vissa fall dödlig utgång medan CEH främst anses vara en subklinisk sjukdom ej associerad med inflammation. Peritonit är den vanligaste komplikationen vid pyometra vilken leder till ökad mortalitet hos tikarna som drabbas. Denna retrospektiva studie syftar till att kartlägga den histologiska morfologin vid pyometra och CEH. Förekomst av tecken på peritonit, grad av inflammation och grad av CEH studerades och samband mellan dessa fynd undersöktes. Vidare undersökte studien om det fanns någon korrelation mellan de histologiska fynden och viss utvald klinisk data (kroppstemperatur, leukocytpartikelkoncentration (LPK), C-reaktivt protein (CRP) samt bakteriemi).

Enligt författarens kännedom har ingen tidigare histologisk studie undersökt förekomsten av peritonit hos tikar med pyometra. Resultaten av denna studie visade att förekomst av histologiska tecken på peritonit kunde observeras hos 59 % av tikarna som diagnostiserats med pyometra vilket är en mycket högre andel än vad som rapporterats i kliniska studier. Vidare kunde denna studie påvisa att tikar med tecken på peritonit hade högre blodkoncentrationer av CRP och LPK än tikar utan tecken på peritonit. I studien påvisades också att CRP och LPK hos tikar med pyometra kan korreleras till allvarlighetsgraden av en livmoderinflammation och att det verkar finnas ett samband mellan grad av inflammation i endometriet och grad av CEH.

Kliniskt innebär dessa fynd att CRP och LPK kan vara möjliga markörer för tidig detektion av peritonit hos tikar med pyometra och på så vis öka förutsättningen för att adekvat behandling sätts in i ett tidigt skede vilket i sin tur skulle kunna öka överlevnaden.

SUMMARY

Two regularly encountered pathologies of the canine uterus, most commonly affecting middle aged to older intact bitches, are pyometra and cystic endometrial hyperplasia (CEH). Pyometra often develops into a systemic disease which can have serious complications sometimes leading to the death of the affected bitch. CEH on the other hand is usually a subclinical condition not associated with inflammation. Peritonitis is the most common complication of pyometra and leads to increased mortality of the individuals affected. This retrospective study aims to survey the histological morphology of the uterus of bitches with pyometra and cystic endometrial hyperplasia. The presence of histological signs of peritonitis, degree of endometrial inflammation and the degree of CEH was studied and connections between the findings were investigated. Furthermore, the study investigated whether any correlation could exist between histological findings and certain clinical data (body temperature, C-reactive protein (CRP), leucocyte particle concentration (LPK) and bacteremia).

There has to the authour's knowledge been no previous histological study examining the presence of signs of peritonitis in bitches with pyometra. In this study it was discovered that the proportions of bitches with pyometra and histological signs of peritonitis were far greater than what has previously been reported in clinical studies. Furthermore, the results showed that bitches with histological signs of peritonitis have a significantly higher mean blood concentration of CRP and LPK than bitches with no signs of peritonitis. It was also discovered that concentrations of CRP and LPK of the bitches with pyometra possibly can be used to predict the degree of inflammation of the uterus. There also seems to be a connection between the degree of uterine inflammation and the degree of CEH.

Clinically these suggest CRP and LPK may be possible markers for early detection of peritonitis in bitches in pyometra. This could increase the chance of adequate treatment being implemented early in the course of the disease which may decrease the mortality of these individuals.

INNEHÅLL

INTRODUKTION	1
LITTERATURÖVERSIKT.....	2
Tikens löpcykel	2
Pyometra och cystisk endometriehyperplasi	3
Etiologi och patogenes	3
Anamnes och kliniska tecken	3
Diagnostik	4
Behandling	6
Histologisk morfologi vid pyometra och CEH.....	8
MATERIAL OCH METODER.....	10
Bedömning av histologisk morfologi	10
Typ av inflammation	11
Grad av inflammation.....	11
Grad av CEH	11
Peritonit	11
Kliniska data.....	11
Kroppstemperatur	11
Laboratorieanalyser	12
Statistiska beräkningar	12
RESULTAT	12
Histologisk morfologi.....	12
Typ av Inflammation	12
Grad av inflammation.....	13
Grad av CEH	13
Peritonit	14
Kliniska data.....	18
Kroppstemperatur	19
Leukocytpartikelkoncentration.....	19
C-reaktivt protein	19
Bakteriemi	20
DISKUSSION	22
KONKLUSION.....	25
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	26
REFERENSER.....	29

INTRODUKTION

Pyometra är en av de vanligaste sjukdomarna som drabbar okastrerade tikar runt om i världen. Liksom namnet antyder blir livmodern varfylld vid detta tillstånd som ofta även leder till systemisk sjukdom. Pyometra är att betrakta som en potentiellt livshotande sjukdom och kan få allvarliga konsekvenser för tiken. I Sverige diagnostiseras 19 % av alla tikar med pyometra före 10 års ålder och hos vissa raser är denna siffra så hög som 50 % (Jitpean *et al.*, 2014). Sjukdomen drabbar främst medelålders och äldre tikar men har diagnostiserats hos hundar mellan 4 månader och 18 års ålder (Nelson & Feldman, 1986; Hagman, 2018). Pyometra uppstår vanligen i metöstrus, när progesteronproduktionen är som mest uttalad, och både hormonella faktorer och bakteriell infektion är viktiga komponenter för utvecklande av sjukdomen (Bartoskova *et al.*, 2007; Dow, 1958; De Bosschere *et al.*, 2000).

Det har diskuterats huruvida pyometra är ett eget sjukdomskomplex eller om sjukdomen bör räknas som en del av ett så kallat cystisk endometriehyperplasi-pyometrakomplex. Vid cystisk endometriehyperplasi (CEH) kan hyperplasi och hypertrofi av endometriets mucus-producerande körtelepitelceller påvisas samt bildning av cystor i endometriet som orsakas av upprepad progesteronstimulering av livmodern (Dow, 1958; De Bosschere *et al.*, 2000). Ibland kan vätska ansamlas i livmodern, med eller utan förekomst av samtidig CEH, men när denna vätska är steril benämns tillståndet mucometra, hydrometra eller hemometra beroende på vätskans typ. CEH associeras inte med bakteriell infektion och sjukdomsstecknen är i regel lindriga eller subkliniska (De Bosschere *et al.*, 2000). Pyometra och CEH förekommer ofta samtidigt men tillstånden kan även uppstå separat (Dow, 1958; De Bosschere *et al.*, 2000). Att kunna differentiera de olika sjukdomarna har stor betydelse då pyometra snabbt kan leda till endotoxinemi och chock och behöver behandlas i ett akut skede. CEH utan samtidig pyometra har inte samma risk att utvecklas till ett livshotande tillstånd.

Denna retrospektiva studie har två generella syften. Det ena syftet är att beskriva livmodermorfologin vid diagnostiserad pyometra och undersöka om det finns något påvisbart samband mellan grad av inflammation och grad av CEH. Förekomsten av tecken på peritonit kommer också att studeras, då detta är en allvarlig och relativt vanlig komplikation till sjukdomen. Denna del av studien är av stor vikt då det enligt vår kännedom ej genomförts liknande histologiska studier avseende pyometra och peritonit tidigare. Ett annat syfte är att undersöka om det finns något samband mellan utvalda kliniska data (kroppstemperatur, leukocytpartikelkoncentration (LPK), C-reaktivt protein (CRP) samt bakteriemi) och grad av inflammation, grad av CEH samt förekomst av peritonit.

LITTERATURÖVERSIKT

Tikens löpcykel

Då hormonernas cyklicitet har visat sig ha stor betydelse för utvecklingen av pyometra och cystisk endometriehyperplasi (CEH) är det viktigt att känna till den normala löpcykeln för att vidare kunna förstå patogenesen bakom sjukdomskomplexen (De Bosschere *et al.*, 2000; Concannon, 2011). Tikens löpcykel är en komplex fysiologisk process som fortgår under hela den okastrerade hundens liv. Den första löpningen brukar inträffa vid 6 till 14 månaders ålder hos de allra flesta hundraser. Tikens löpcykel delas in i fyra faser – proöstrus, östrus, metöstrus och anöstrus. De olika faserna har varierande längd hos olika individer och antalet dagar som löpcykeln pågår varierar därför kraftigt mellan 160 och 370 dagar. I var och en av faserna förekommer olika typiska beteenden och kliniska tecken hos tiken (Concannon, 2011). Tikens livmoder är ett dynamiskt organ och även denna ändrar utseende och funktion beroende på fas där det slutliga målet är en optimal miljö för implantation och bibehållen dräktighet. (Barrau *et al.*, 1975). De två hormoner som är centrala under löpcykeln är östrogen och progesteron som fluktuerar i plasmakoncentration under dess olika faser (Concannon, 2011).

Proöstrus pågår i genomsnitt i 9 dagar. Vid proöstrus start noteras en ansvällning av vulva och en serös, blodblandad vaginal flytning. Hanar visar ofta intresse för tikar i proöstrus men tikarna tillåter inte parning. Plasmaöstrogennivåerna börjar stiga 2-3 dagar innan de första tecknen på proöstrus (Concannon, 2011; Butinar, Mujagić & Galac, 2004). De stigande östrogennivåerna påverkar livmodern och endometriet blir ödematöst samtidigt som körtelepitelet genomgår hyperplasi och hypertrofi och körtelcellerna differentieras till stora mucusutsöndrande celler (Barrau *et al.* 1975).

Östrus beskrivs som den period när tiken är parningsvillig och har en genomsnittlig längd på 9 dagar. Under östrus minskar östrogennivåerna i blodet och progesteronnivåerna ökar (Concannon, 2011; Butinar, Mujagić & Galac, 2004). I och med denna hormonella förändring sker ytterligare endometriell tillväxt och körtlarna växer i höjd och bredd (Barrau *et al.* 1975).

Efterlöpets, metöstrus börjar när tiken inte längre är parningsvillig. Denna fas kan också betecknas diöstrus eller lutealfas och pågår vanligen i ca 70-100 dagar. Under denna fas är progesteron det hormon som har dominerande effekt på tikens fysiologi (Concannon, 2011; Butinar, Mujagić & Galac, 2004). Hos icke-dräktiga tikar fortgår tillväxten av endometriet till dag 6 av metöstrus varefter tillväxten avtar. Dag 16 av metöstrus faller progesteronnivåerna i blodet och regressionen av endometriet och körtlarna är markant. Körtelepitelcellerna återgår snabbt till samma storlek och inaktivitet som vid anöstrus. Vid metöstrus ses normalt rikligt med makrofager i endometriet (Barrau *et al.*, 1975).

Övergången från metöstrus till anöstrus sker gradvis och tikar kan sägas vara i metöstrus när progesteronnivån i serum är 1-2 ng/ml (Concannon, 2011). Under denna period är nivåerna av både östrogen och progesteron låga och diametern och längden på endometriekörtlarna som minst (Barrau *et al.*, 1975). Även om progesteronnivåerna är låga hos tikar i anöstrus så är det viktigt att notera att synliga men inaktiva gulkroppar kan finnas kvar hos tikarna i upp till 16 veckor efter östrus (Wildt, Levinson & Seager, 1977). Tikar i anöstrus är inte intresserade av

hanhundar och hanhundarna uppvisar inte heller intresse för tikarna. Anöstrus pågår i genomsnitt i 6 till 7 månader men kan normalt variera mellan 4 till 12 månader (Concannon, 2011; Butinar, Mujagić & Galac, 2004).

Pyometra och cystisk endometriehyperplasi

Etiologi och patogenes

Patogenesen vid pyometra är invecklad och ännu inte helt klarlagd men sjukdomsutvecklingen involverar både hormonella och bakteriella faktorer (De Bosschere *et al.*, 2000; Dow, 1958). Sjukdomen uppträder främst i metöstrus när miljön i livmodern är optimal för att tillåta implantation och upprätthålla en dräktighet men i och med detta ökar även förutsättningarna för bakteriekolonisation. Metöstrus är den fas i löpcykeln då progesteronnivåerna är högst. Progesteron stimulerar tillväxt av körtlar i endometriet, ökad sekretion från dessa, slutning av cervix och minskning av myometriekontraktioner. Progesteron inhiberar också produktionen av lokala kemokiner i livmoder som rekryterar neutrofiler och monocyter till livmodern vid intrång av främmande agens. Även detta är en viktig del i implantationens möjliggörande och vidmakthållande av dräktighet men ökar också risken för bakterieinfektion (Sugiura *et al.*, 2004). Enligt Sugiura *et al.* (2004) påverkas även det systemiska immunförsvaret av äggstockshormonerna. Östrogen aktiverar direkt T- och B-celler medan progesteron å andra sidan inhiberar nybildning och aktivering av lymfocyter.

Honliga könshormoner påverkar inte bara immunförsvaret utan har även en direkt påverkan på utvecklingen av pyometra och CEH. Det är väl vedertaget att upprepad progesteronstimulering är en viktig komponent i utvecklandet av båda sjukdomarna (Dow, 1958). Vid flera studier har dock progesteron- och östrogennivåer hos tikar med pyometra och CEH inte visats vara högre när diagnosen ställs än hos friska tikar (Austad, Blom & Borrensens, 1979; Hadley, 1975; Chaffaux & Thibier, 1978). Livmodervävnaden hos tikar med pyometra har visats ha en ökad mängd progesteronreceptorer och det är troligt att det hos tikar med sjukdomen blir ett onormalt svar på normala nivåer av progesteron (Dhaliwal, England & Noakes, 1999; Prapaiwan, Manee-in, Olanratmanee & Srisuwatanasagul, 2017).

Den bakterieart som oftast isoleras från livmodern vid pyometra är *Escherichia coli* (*E. coli*) som isoleras i ca 90 % av fallen (Fransson *et al.*, 1997). *Escherichia coli* finns naturligt i den normala bakteriefloran i vagina och bakteriearten har påvisat ökad vidhäftningsförmåga till progesteronstimulerade celler i endometriet (Sandholm, Vasenius, & Kivisto, 1975). Infektionen är oftast ascenderande vilket styrks av att samma bakteriestammar som ofta återfinns vid pyometra även återfinns i gastrointestinalkanalen och i feces hos tikarna (Coggan *et al.*, 2008). Det är också möjligt med en hematogent spridd infektion men detta tros vara mindre vanligt (Nelson & Feldman, 1986).

Anamnes och kliniska tecken

Pyometra drabbar vanligen medelålders till äldre tikar vid ca 7 – 10 års ålder men har diagnostiserats på hundar mellan 4 månader och 18 års ålder (Nelson & Feldman, 1986; Egenvall *et al.*, 2001). En studie av Moxon, Whiteside och England (2016) visar att även prevalensen av CEH stiger med ökande ålder. Incidensen av pyometra är högre hos vissa raser

vilket indikerar att det kan finnas en genetisk predisposition hos dessa raser (Egenvall *et al.*, 2001). Tidigare dräktighet hos tiken har i en studie av Niskanen och Thrusfield (1998) påvisats minska risken för pyometra. I samma studie konstaterades att predisponerande faktorer för pyometra och CEH är tidigare behandling med progesteron eller östrogen. CEH tros, liksom tidigare nämnt, göra livmodern mer mottaglig för pyometra (Dow, 1958).

Sjukdomstecken vid pyometra är väl dokumenterade. Ett av de vanligaste symptomen som ses vid pyometra är vaginala flytningar. Flytningarna kan variera i karaktär från tunn och blodblandad till tjock och mucopurulent och uppträder vanligen fyra till åtta veckor efter östrus men kan i vissa fall uppkomma så sent som 16 veckor efter östrus. I ovanliga fall kan tikarna drabbas av pyometra i andra faser av löpcykeln eller under dräktighet (Pretzer, 2008). Andra vanliga symptom som ofta noteras är nedsatt allmäntillstånd, inappetens, polyuri, polydipsi, feber, buksmärtor, rörelseavvikelse, utspänd buk, dehydrering och gastrointestinala störningar. Det är viktigt att notera att pyometra kan förekomma utan synbara vaginala flytningar varför tillståndet bör uteslutas hos alla okastrerade tikar med nedsatt allmäntillstånd och allmän sjuklighet (Nelson & Feldman, 1986).

Generellt sett så är sjukdomstecken vid pyometra allvarligare och risken för komplikationer därmed större när cervix är sluten (så kallad stängd pyometra) (Dow, 1958). När cervix är sluten kan purulent exsudat från livmodern inte evakueras och livmodern blir utspänd. Frånvaro av vaginala flytningar kan också leda till att djurägare inte misstänker sjukdomen förrän i ett senare sjukdomsstadium, det vill säga när tiken är mer allvarligt sjuk. Tikar med stängd pyometra har ofta kraftigt nedsatt allmäntillstånd, är dehydrerade, kräks och har antingen feber eller hypotermi. Dessa tikar utvecklar oftare sepsis än tikar med öppen pyometra (Jitpean *et al.*, 2017).

Vid kraftig infektion där många Gram-negativa bakterier avdödas samtidigt, frisätts stora mängder endotoxin som kan orsaka allvarliga systemiska reaktioner när det förekommer fritt i blodbanorna. Endotoxinfrisättningen kan leda till chock, disseminerad intravasal koagulation (DIC), systemiskt inflammationsresponssyndrom (SIRS), njursvikt och dödsfall. Tikar med kraftig endotoxinfrisättning har påvisats ha sämre prognos för överlevnad (Okano, Tagawa & Takase, 1998).

Till skillnad från pyometra förekommer CEH oftast subkliniskt, det vill säga hos tikar som inte uppvisar några tecken på sjukdom. Om tikarna utvecklar en samtidig mukometra, hydrometra eller hemometra kan tikarna få en utspänd buk men även dessa tillstånd brukar vara subkliniska eller milda (Hagman *et al.* 2006). I vissa fall kan tikarna få nedsatt fertilitet på grund av det förändrade endometriet vid CEH (Fayrer-Hosken *et al.*, 1992).

Diagnostik

Bilddiagnostik

De två bilddiagnostiska undersökningsmetoder som används vid diagnostik av pyometra är slätröntgen och ultraljud. Med hjälp av slätröntgen kan en förstorad livmoder normalt identifieras från fyra veckor efter lyckad parning och fram till 2-4 veckor efter förlossning. I

övrigt ska man normalt sett inte kunna visualisera livmodern på slätröntgen. Vid pyometra blir livmodern oftast förstörd och kan då identifieras som en vätsketät tubulär struktur i kaudoventrala buken som förskjuter tarmarna kranialt och dorsalt. Det går dock inte att utesluta pyometra även om livmodern har normal storlek. Peritonit, som är en relativt vanlig komplikation vid pyometra, kan ibland också diagnostiseras med hjälp av slätröntgen. Livmoderförstoring och bukighet som orsakas av dräktighet kan också uteslutas med slätröntgen (Nelson & Feldman, 1986).

Ultraljudsundersökning är ett mycket bra redskap för diagnostik av både pyometra och CEH. Ultraljud ger en mer detaljerad bild av livmodern och en erfaren ultraljudstekniker kan bedöma tjockleken på livmoderväggen, livmoderns diameter och om det finns en ansamling av vätska i livmoderlumen. Vätskans ekogenicitet kan också bedömas vilket ger vägledning om vätskans täthet. Detta kan hjälpa till att differentiera pyometra från hydro-, muco-, och hemometra men det är inte alltid möjligt. Man kan även diagnosticera CEH med hjälp av ultraljud vilket inte är möjligt på slätröntgen. Peritonit och ruptur av livmodern kan också ofta visualiseras (Nelson & Feldman, 1986; Bigliardi *et al.*, 2004).

Hematologi

Vid undersökning av blodbilden vid pyometra är ett vanligt fynd ett förhöjt totalantal vita blodkroppar ofta med monocytos och neutrofili som ibland visar på vänsterförskjutning samt toxiska neutrofiler. Ett normalt antal vita blodkroppar utesluter dock inte sjukdomen. Eftersom pyometra ofta har ett kronisk inflammatoriskt förlopp är det vanligt med en normocytär, normokrom regenerativ anemi (Hagman, 2018). Vissa tikar har leukopeni vilket enligt Jitpean *et al.* (2014) är förenat med ökad risk för peritonit och längre postoperativ vård på djursjukhus.

Klinisk kemi

Avvikelser i kliniskt kemiska analyser varierar mellan individer och kan vara mycket olika mellan olika fall. Förhöjda kreatinin- och ureakoncentrationer har observerats sekundärt till pyometra och kan bero på prerenal azotemi till följd av dehydrering eller sekundär njurpatologi. Försämrade njurfunktion kan orsakas av endotoxinemi, tubuliskador, glomerulär dysfunktion och minskat svar på antidiuretiskt hormon (Maddens *et al.*, 2011; Nelson & Feldman, 1986; Jitpean *et al.*, 2014). I vissa fall ses en lindrig hyperproteinemi som bland annat kan bero på dehydrering (Nelson & Feldman, 1986). C-reaktivt protein (CRP), serum amyloid A (SAA) och haptoglobin som alla är positiva akutfasproteiner vars koncentrationer i blodet mångdubblas vid inflammation är oftast förhöjda hos tikar med pyometra (Dąbrowski *et al.*, 2009; Nakamura *et al.*, 2008). Förhöjda aktivitetvärden av leverenzymerna alaninaminotransferas (ALAT) och alkaliskt fosfatas (ALP) är också vanliga fynd (Fransson *et al.*, 2004; Hagman, 2018). Detta tros kunna bero på hepatocellulär skada som orsakas av septikemi, minskad hepatisk cirkulation och/eller cellulär hypoxi (Nelson & Feldman, 1986). Det ska dock noteras att ALAT och ALP värden också kan vara lägre än normalt vid pyometra (Kaymaz *et al.*, 1999).

Cystisk endometriehyperplasi är en förändring i livmodern och utan samtidig infektion har tikar med CEH inga systemiska sjukdomstecken (De Bosschere *et al.*, 2000). Enbart CEH associeras inte heller med några större förändringar i vare sig blodbilden eller för biokemiska parametrar

och dessa analyser kan därför underlätta vid differentiering mellan pyometra och CEH (Fransson *et al.*, 2004).

Urinprov

Cystit med samtidig pyometra kan vara svårt att diagnostisera eftersom ett spontankastat urinprov kontamineras av exsudat från livmodern. Ett urinprov taget genom cystocentes är mer tillförlitligt men kräver stor försiktighet för att inte riskera att punktera den varfyllda livmodern (Nelson & Feldman, 1986). Urinvägsinfektion har visats vara den näst vanligaste komplikationen vid pyometra och drabbar 6 % av tikarna (Jitpean *et al.*, 2014). Proteinuri är också ett vanligt fynd vid pyometra men detta, liksom samtidig urinvägsinfektion, har visat sig oftast gå över efter behandling av livmodersjukdomen. Om njurarna blir sekundärt påverkade, vilket diskuteras ovan, kan urindensiteten bli mycket låg och hundarna kan uppvisa isostenuri eller hypostenuri (Nelson & Feldman, 1986).

Cytologisk undersökning och bakterieodling från vagina

Vaginal svabbprovtagning med cytologisk undersökning och bakterieodling från vagina bör ej användas vid diagnostisering av pyometra då resultaten är svårtolkade. Bakterier och neutrofiler kan påvisas i vagina hos tikar med pyometra likväl som friska tikar eller tikar med vaginit (Nelson & Feldman, 1986). Bakterieodling från kraniala vagina samt antimikrobiell resistensbestämning kan dock vara värdefullt i vissa fall som vid t ex medicinsk behandling av pyometra för vägledning vid val av antibiotikapreparat (Sveriges Veterinärförbund, 2009). Läkemedelsverket (2016) poängterar däremot att det är tveksamt om antibiotikapreparat alls bör ingå i den medicinska behandlingen av pyometra eftersom teurapeutiska koncentrationer sannolikt inte uppnås på infektionsplatsen.

Behandling

Kirurgisk behandling

Kirurgisk behandling, dvs ovariohysterektomi är den behandling som oftast används vid pyometra och som anses vara den säkraste då källan till infektionen avlägsnas och man även förhindrar att sjukdomen kan återkomma (Hardy & Osborne, 1974; Dąbrowski *et al.*, 2009; Bartoskova *et al.*, 2007). Prognosen för fullt tillfrisknande vid kirurgisk behandling är god och mortaliteten varierar mellan 1 % och 20 % (Hagman, 2018; Hagman *et al.*, 2007; Jitpean *et al.*, 2014). Mortaliteten kan dock vara högre vid mycket påverkat allmäntillstånd med kraftig sjukdom eller om komplikationer uppstår (Hagman, 2018). Tikar som behandlas kirurgiskt tillfrisknar oftast snabbt efter operationen (Bartoskova *et al.*, 2007; Dąbrowski *et al.*, 2009).

Innan operation företas rekommenderas att djuren stabiliseras med vätsketerapi (Fossum, 2013). Perioperativ antibiotikabehandling kan övervägas på djur med kraftigt påverkat allmäntillstånd och i fall där man misstänker sepsis. Ampicillin är det antibiotikapreparat som rekommenderas med hänsyn till aktuell bakterieflora (Sveriges Veterinärförbund, 2009; Läkemedelsverket, 2016). Användandet av aminopenicillin som förstahandsval vid pyometra stöds av Hagman och Greko (2005) som i sin studie fann att över 90 % av *E. coli*-stammar som isolerats vid pyometra var känsliga för denna typ av antibiotika. Restriktivt användande rekommenderas dock och antibiotika ska endast användas när det behövs och bör sättas ut så snart det är möjligt (Läkemedelsverket, 2016).

Ovariohysterektomi utförs under allmän narkos enligt samma principer som en normalkastration, men med viss anpassning. Livmodern bör hanteras med stor försiktighet för att undvika ruptur eftersom den ofta är inflammerad och skör. Livmodern packas in med kompresser för att undvika läckage av purulent exsudat till bukhålan. Cervix ligeras med en cirkulär sutur för att undvika stump-pyometra och ytterligare en ligatur vardera fästs kring arteria och vena uterina lateralt om cervix. Vid misstanke om att buken kan ha kontaminerats med var sköljs den ur med rikliga mängder av kroppsvarm, steril, fysiologisk koksaltlösning. Buken kan sedan sys igen helt om inte tecken på peritonit föreligger i vilket fall anläggning av drän bör övervägas (Fossum, 2013).

Postoperativ övervakning är viktigt och behov av ytterligare åtgärder och medicinsk behandling utvärderas kontinuerligt. Ofta kan tikarna få åka hem efter en till två dagar av postoperativ sjukhusvistelse men vid komplikationer och hos djur med kraftigt påverkat allmäntillstånd kan vård på djursjukhus behövas en längre tid (Jitpean *et al.*, 2014). Komplikationer påträffades hos 25 % av tikarna vid en studie av Jitpean *et al.* (2014). Den vanligaste komplikationen var peritonit som påträffades hos 13 % av de tikar som behandlats kirurgiskt. Urinvägsinfektion, sårinfektioner, uveit och hjärtarytmier kunde också observeras. Andra komplikationer som rapporterats vid pyometra är intrakraniell tromboemboli, bakteriell osteomyelit, perikardit, myokardit, septisk artrit, svullnad vid opsår, sårruptur, trauma på uretra, återkommande brunsttecken, stump-pyometra, fistelbildning och urininkontinens (Hagman, 2018).

Medicinsk behandling

Enbart medicinsk behandling av pyometra är möjligt för yngre, i övrigt friska avelstikar med öppen pyometra som inte har några äggstockscystor. Då det kan ta upp till 48 timmar innan förbättring ses bör endast tikar som är stabila och med milda kliniska symptom behandlas medicinsk (Fieni, 2006; Nelson & Feldman, 1986). Medicinsk behandling rekommenderas inte vid kraftigt nedsatt allmäntillstånd, feber, hypotermi, misstänkt peritonit, organsvikt samt stängd pyometra (Fieni, Topie & Gogny, 2014). Syftet med behandlingarna är att minska effekterna av progesteron, eliminera livmoderinfektionen, relaxera cervix samt få bort det purulenta exsudatet ur livmoderlumen. Målet är att tiken ska bli fri från klinisk sjukdom, återfå en normal livmoderdiameter, inte längre ha variga flytningar samt ha förbättrade eller helt återställda blodprovsp parametrar (Contri *et al.*, 2015).

Enligt en sammanställning av flera studier blev i genomsnitt 86 % av tikarna som behandlats enbart medicinskt för pyometra friska och i genomsnitt 70 % även fertila (Hagman, 2018). I samma studie rapporterades också att 0-85 % av behandlade tikar någon gång under sin livstid åter drabbas av pyometra med en genomsnittlig återfallsandel på 29 %. Den betydande återfallsrisken påtalas också av Nelson och Feldman (1986). För att undvika att tikarna återfår sjukdomen innan de hunnit få en valpkull rekommenderas att para dem i första löpet efter behandlingen (Fieni, Topie & Gogny, 2014).

Histologisk morfologi vid pyometra och CEH

Två av de studier som utförts avseende histologisk morfologi av livmodern vid pyometra och CEH, och som ofta citeras, är Dow (1958) och De Bosschere *et al.* (2000). Dow (1958) lanserade med sin histologiska post-mortemstudie av livmödrar från tikar ett nytt begrepp - Cystisk Endometriehyperplasi - Pyometrakomplexet. Dow ansåg att de två sjukdomarna var en del av samma sjukdomskomplex och att CEH alltid förekommer pyometra. De Bosschere *et al.* (2000) studerade livmödrar och äggstockar från ovariohysterektomerade tikar. I denna studie inkluderades även kliniska sjukdomstecken hos tikarna och författarna ansåg då att det var mer korrekt att dela upp CEH och pyometra i två distinkta grupper avseende inflammationsgrad och sjukdomsbild. De Bosschere *et al.* (2000) ansåg också att CEH och pyometra kan uppstå separat och att CEH inte alltid förekommer pyometra.

Dow (1958)

Syftet med Dows (1958) studie var att undersöka om det fanns någon korrelation mellan kliniska och histopatologiska fynd hos tikar med CEH-pyometra för att förhoppningsvis bättre kunna förstå etiologin och patogenesen bakom sjukdomskomplexet. Studien baserades på histologiska post mortem undersökningar av livmoder- och äggstocksvävnad. Både tikar som haft symptom från genitalierna och tikar som inte haft symptom inkluderades i studien. Samtliga tikar med tecken på inflammation i livmodern bedömdes vara i antingen metöstrus eller anöstrus. Tikarna indelades i fyra grupper beroende på histologiska fynd.

Grupp 1 inkluderade preparat som samtliga påvisade varierande grad av CEH men inga tecken på inflammation. Dessa hundar var alla i olika stadier av löpcykeln och Dow (1958) fastställde därför att CEH inte var en cyklisk förändring.

I grupp 2 inkluderades preparat med CEH och samtidigt diffust infiltrat av plasmaceller som observerades främst ytligt i endometriet och kring endometriets körtlar. I vissa fall med utbredd cellinfiltrat kunde plasmaceller även ses omringa kärl i inre myometriet och stratum vasculare. Nekros, fibros och ödem observerades generellt inte i dessa preparat. I livmoder av hos dessa hundar återfanns endast en liten mängd klar eller blodblandad vätska.

Preparaten i grupp 3 hade alla rikligt med innehåll i livmoderlumen. Innehållet varierade både i färg och viskositet från tjockt, gulgrönt mucopus till lättflytande, rödbrunt med små blodkoagel. Endometriet hade ett ojämnt utseende med pusfyllda cystor, blödningar samt områden med ulcerationer. Histologiskt sågs en akut endometrit med stas, ödem och neutrofilinfiltrat. I allvarligare fall hade neutrofilerna trängt in även i myometriet och ulcerationer noterades.

Grupp 4 delades in i två undergrupper beroende på om cervix var öppen eller stängd. Alla tikar i denna grupp visade histologiska tecken på en kronisk inflammation i livmodern. Tikarna med öppen cervix hade förtjockad livmodervägg och lindrigt med mucopus i lumen till skillnad från tikarna med stängd cervix vars livmoderlumen var kraftigt varfyllda och utspända med papperstunna väggar. Båda grupperna visade histologiskt på endometrieatrofi med lindrigt lymfocytinfiltrat och enstaka plasmaceller. Enstaka cystor kunde också ses. Tikarna hade visat

sjukdomstecken under en längre tid - vissa så långt bak som senaste östrus (40-90 dagar). De med öppen pyometra hade generellt lindriga sjukdomstecken med flytningar och dålig aptit medan tikarna med stängd cervix var kraftigt allmänpåverkade.

Vidare lyckades Dow (1958) också experimentellt inducera CEH och endometrit hos ett antal tikar genom upprepad administration av progesteron. Man observerade även att östrogen i sig inte verkar vara avgörande i sjukdomsutvecklingen men att små doser östrogen potentierar effekten av progesteron. I och med studien lyckades man därmed stärka misstanken om att honliga könshormoner är centrala vid utvecklandet av CEH och pyometra.

Dows (1958) drog flera slutsatser från resultaten av studien. Ett viktigt fynd var att CEH kunde utvecklas efter upprepad progesteronstimulering av endometriet. Detta demonstrerades av preparaten i grupp 1. En akut inflammation i endometriet konstaterades kunna utvecklas utöver CEH vilket oftast skedde under de första 40 dagarna av metöstrus. Denna typ av inflammation observerades hos preparaten i grupp 3. Inflammationen verkade obehandlad antingen kunna leda till döden eller till spontan återhämtning. Experimentellt kunde återhämtningen observeras när man slutade administrera progesteron eller ovarioektomerade tikar med akut endometrit. Hos dessa tikar sågs då histologiskt ett diffust plasmacellsinfiltrat och därav hypotiserade man att tikarna i grupp 2 var sådana som spontant återhämtat sig från akut endometrit. Vidare kunde en inflammation med kronisk karaktär observeras i livmödrarna hos preparaten i grupp 4. Dessa tikar befann sig alla i fasen 40 till 90 dagar efter östrus. Dow (1958) misstänkte att denna kroniska inflammationstyp möjligen kunde utvecklas efter flera cykler med upprepade akuta endometritter som avläkt eller att det kunde vara ett senare stadie av den akuta inflammationen. Dow (1958) ansåg att man av detta kunde dra slutsatsen att CEH och pyometra var en del av samma sjukdomskomplex och lanserade därmed begreppet CEH - pyometrakomplexet.

De Bosschere et al. (2000)

I De Bosscheres *et al.* (2000) studie ingick både kliniskt friska tikar som hade bokats in för rutinkastration och tikar med symptom som gjorde att man starkt misstänkte att de hade pyometra. De Bosschere *et al.* (2000) utgick i sin histologiska bedömning från infiltration av inflammatoriska celler i livmoderns lager, procent av endometriet som utgjordes av körtellumen, endo-/myometriratio samt tjockleken på endo- och myometriet. Preparaten delades sedan in i sju grupper där den kliniska sjukdomsbilden hos tikarna togs med i beräkningen likväl som den histologiska morfologin. Även i De Bosscheres *et al.* (2000) studie var alla tikar med inflammation i livmodern antingen i metöstrus eller anöstrus.

De första fyra grupperna som De Bosschere *et al.* (2000) beskrev i sin studie hade histologiskt inga tecken på inflammation i livmodern och de uppvisade heller inga kliniska sjukdomstecken. Tikarna i grupp 1 hade inte några histologiska förändringar alls i livmodern. Grupp 2 bestod av tikar med mild CEH där körtellumen täckte mindre än 25 % av endometriets yta och det endast fanns några få, små cystor. I grupp 3 återfanns tikar med kraftig CEH där många, stora cystor dominerade och täckte mer än 25 % av endometriets yta. Mucometra och endometrieatrofi beskrev den histologiska morfologin hos tikarna i grupp 4.

Det som förenade de övriga tre grupperna beskrivna av De Bosschere *et al.* (2000) var att samtliga visade tecken på inflammation i livmodern och samtliga uppvisade kliniska sjukdomstecken. Grupp 5 beskrevs som endometrit. Tikarna i denna grupp hade en mild infiltration av neutrofiler, lymfocyter och plasmaceller i endometriet. I livmödrarna fanns antingen några få stora eller flera små cystor som täckte mindre än 25 % av endometriets yta. De två sista grupperna benämndes båda pyometra och en kraftig mängd inflammatoriska celler återfanns i livmoderlumen, endometriet och myometriet. I grupp 6 återfanns tikar med kraftig CEH där körtellumen täckte mer än 25 % av endometriets yta. Hos dessa individer sågs också måttlig till kraftig fibros, ulcerationer, nekros, ödem och blödningar. Tikarna i grupp 7 hade samma kraftiga inflammation som sträckte sig genom hela livmoderväggen men histologiskt sågs kraftig endometriell atrofi med nästan total avsaknad av cystor, stroma och körtlar. Grupperna 6 och 7 kallades hyperplastisk respektive atrofisk pyometra.

De Bosschere *et al.* (2000) drog i sin studie slutsatsen att CEH och pyometra histologiskt har många likheter med varandra. Dock skiljer sig den inflammatoriska reaktionen i livmodern och den kliniska sjukdomsbilden vid pyometra från CEH som är en icke-inflammatorisk reaktion utan tydliga sjukdomstecken. Vidare noterade De Bosschere *et al.* (2000) i sin studie att fler fall av CEH upptäcktes hos tikar i metöstrus än i anöstrus. Man noterade även att fler kliniska fall av pyometra upptäcktes i metöstrus än i anöstrus. Detta ansåg man stödde hypotesen att CEH inte alltid förekommer pyometra och att pyometra inte alltid är en konsekvens av en bakterieinfektion i en livmoder med CEH. I och med denna sammanlagda bild ansåg De Bosschere *et al.* (2000) att pyometra och CEH är två separata tillstånd som kan uppstå enskilt och inte bör benämnas som delar av samma sjukdomskomplex.

MATERIAL OCH METODER

I studien ingick data och livmodervävnad från totalt 43 tikar varav 39 diagnostiserats med pyometra och behandlats kirurgiskt för tillståndet och fyra tikar var kliniskt friska tikar som normalkastrades. Samtliga tikar opererades på Universitetsdjursjukhuset (UDS), Sveriges lantbruksuniversitet (SLU), Uppsala under åren 2011-2013 samt 2017. Alla tikar genomgick ovariohysterektomi (OHE) dvs. en operation där både äggstockar och livmoder avlägsnas. Åldern hos tikarna med pyometra varierade från 3,5 år till 12,4 år med en genomsnittsålder på 8,2 år. De kliniskt friska tikarna, som hade en medelålder på 3,7 år, inkluderades i studien som en kontrollgrupp för att möjliggöra en jämförelse av histologisk livmodermorfologi och kliniska parametrar mellan friska individer och individer med diagnostiserad pyometra. Endast data och vävnad från tikar med synliga gulkroppar i äggstockarna inkluderades i studien.

Bedömning av histologisk morfologi

Livmoder och äggstocksvävnad har samlats in och fixerats i 4 % fosfatbuffrad formalinlösning i direkt anslutning till operationen. Snitten skars sedan till 5 mm tjocklek och bäddades in i paraffin. Preparaten har sedan snittats ytterligare till 3-5 μm , placerats på objektglas och färgats med hematoxylin och eosin (H&E). Enstaka preparat har också färgats med Masson-Trichrome. Två till åtta snitt har samlats in från vardera hund. Snitten är tagna från höger och vänster livmoderhorn på de platser där de tydligaste makroskopiska förändringarna observerats samt från båda äggstockarna. De histologiska snitten analyserades sedan i ett Nikon Eclipse E600

mikroskop och bedömdes gällande typ av inflammation, grad av inflammation, grad av CEH och tecken på peritonit enligt nedan. Bilder av de histologiska snitten har tagits med kameran Nikon DMX 1200.

Bedömningen av de histologiska snitten har utförts av författaren till studien med stöd av Fredrik Södersten VMD i patologi och universitetsadjunkt vid institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF); Enheten för patologi vid SLU, Uppsala.

Typ av inflammation

Inflammationstyp definierades beroende på vilken typ av inflammatorisk cell som hade rikligast förekomst i endometriet. Tikarna delades sedan in i följande grupper: lymfocytär inflammation, plasmacellsdominerad inflammation, neutrofil inflammation samt en grupp med avsaknad av inflammatorisk reaktion.

Grad av inflammation

Graden av inflammation i livmodern karaktäriseras både av mängden inflammatoriska celler i endometriet och förekomst inflammatoriska celler i myometriet samt förekomst av blödningar, ödem, fibros, nekros och ulcerationer av epitelet. Denna kategori har delats in i fyra grupper: ingen inflammation (grad 0), lindrig inflammation (grad 1), måttlig inflammation (grad 2) samt kraftig inflammation (grad 3).

Grad av CEH

Även denna kategori delades in i fyra grupper: ingen CEH (grad 0), lindrig CEH (grad 1), måttlig CEH (grad 2) eller kraftig CEH (grad 3). Bedömningen gjordes både med avseende på mängd körtlar och körtlarnas diameter.

Peritonit

Alla preparat undersöktes avseende tecken på peritonit. I denna kategori fördelades preparaten endast i två grupper: Tecken på peritonit eller avsaknad av tecken på peritonit. Kriteriet som bedömdes som viktigast för avgörandet om tecken på peritonit fanns var förekomst av inflammatoriska celler utanför livmoderns serosalager. I vissa fall observerades även fibrinansamlingar och/eller bakterier utanför serosalagret.

Kliniska data

De kliniska- och laboratorieparametrar som valdes ut att ingå i detta arbete var kroppstemperatur, LPK, CRP och bakteriemi. Samtliga prover togs preoperativt.

Kroppstemperatur

Kroppstemperaturen hos tikarna uppmättes med rektaltermometer i samband med den kliniska undersökningen vid ankomsten till UDS.

Laboratorieanalyser

Leukocytpartikelkoncentration analyserades i helblod, i rör med EDTA tillsats, med instrumentet Advia 2120 (Siemens Healthcare, Erlangen, Tyskland) på kliniskt kemiska laboratoriet, UDS, SLU, Uppsala. Normala variationen för hund anges vara $5,2\text{--}14,1 \times 10^9/\text{L}$.

CRP analyserades i serum med två för hund validerade automatiserade immunoturbidimetriska metoder - High Linearity CRP assay (Randox laboratories, Crumlin, United Kingdom) 2011-2012 samt Canine CRP assay (Gentian, Moss, Norge) 2013 och 2017. Gränsvärdet för förhöjd CRP-koncentration som anses ha betydelse vid klinisk systemisk inflammation (clinical decision limit) är $>20 \text{ mg/L}$. Vid beräkning av medelvärden och standardavvikelser så har samtliga individer med CRP nivåer under 5 mg/L angetts som 5 mg/L för att underlätta vid beräkningen eftersom metoden inte anger ett mer exakt.

Vissa av de tikar som ingick i denna studie undersöktes även avseende förekomst av bakterier i blodet. Bakterieodlingen utfördes från helblod som insamlades aseptiskt preoperativt. För varje hund insamlades 6 ml blod varav 3 ml tillsattes till vardera en anaerob och en aerob blododlingsflaska (BOF, Substratlab, Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA), Uppsala). Bakterieodling och antimikrobiell resistensbestämning utfördes vid enheten för bakteriologi, SVA, Uppsala. Bakterieväxt i antingen anaerobt eller aerobt substrat har angetts som positivt avseende bakteriemi. Resultatet har redovisats i andel individer med positivt resultat för varje morfologisk kategori.

Statistiska beräkningar

Medelvärden och standardavvikelser av kroppstemperatur, LPK och CRP har beräknats för respektive grupp i kategorierna inflammationsgrad, grad av CEH och förekomst av tecken på peritonit. För att vidare utreda om resultatet som uppnått är statistiskt signifikant har one-way Analysis of Variance (ANOVA)-test använts för kategorierna inflammationsgrad och grad av CEH där vardera kategori innehåller fyra grupper. För att ytterligare få reda på vilka grupper, om några, som skiljde sig signifikant från varandra användes ett Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test. I kategorin förekomst av tecken på peritonit finns det endast två grupper och här har den statistiska signifikansen av resultatet därför beräknats med hjälp av Students t-test. Signifikansnivån sattes till $P < 0,05$ i samtliga beräkningar. Förekomsten av bakteriemi har presenterats med hjälp av deskriptiv statistik i form av procentsatser.

RESULTAT

Histologisk morfologi

Fynden vid den histologiska undersökningen av samtliga livmödrar sammanfattas i Tabell 1 och exempel på fynden kan ses i Figur 1-4.

Typ av inflammation

Materialet grupperades avseende inflammation i följande grupper; ingen inflammation, lymfocytdominerad inflammation, plasmacellsdominerad inflammation samt neutrofil-dominerad inflammation. Totalt sex individer bedömdes inte visa några histologiska tecken på

inflammation i livmoder. Av dessa sex tikar var tre individer klinisk friska hundar som genomgick normalkastrationer och förväntades därmed inte heller visa några tecken på inflammation. Till gruppen med dominerande lymfocytär inflammation bedömdes åtta individer tillhöra. En individ i denna grupp var en av de kliniskt friska tikarna som normalkastrerades. Tikarna i denna grupp uppvisade generellt en lindrig endometrit med inget eller mycket lindrigt med purulent exsudat i livmoderlumen vid histologisk undersökning. 11 individer bedömdes ha en framför allt plasmacellsdominerad inflammation medan 18 tikar hade en inflammatorisk reaktion med främst neutrofiler i livmoderns lager. Nästan alla individer i de två sistnämnda grupperna hade måttligt till kraftigt med purulent exsudat i livmoderlumen.

Grad av inflammation

Även denna kategori består av fyra grupper; ingen inflammation, lindrig inflammation, måttlig inflammation och kraftig inflammation. I Tabell 1 benämns dessa grupper inflammationsgrad 0-3. I gruppen som inte uppvisade någon inflammation ingår samma sex individer som i ovanstående kategori ingår i gruppen med samma namn. Åtta individer ingår i gruppen som bedömdes ha inflammationsgrad 1 och av dessa så hade 7 av 8 en lymfocytdominerad inflammation i endometriet medan en individ hade en neutrofildominerad inflammation. Preparaten i inflammationsgrad 1 hade en lindrig förekomst av inflammatoriska celler i endometriet men inga tecken på metrit och inga eller lindriga blödningar och ödem. 15 av tikarna uppvisade inflammationsgrad 2 och hos preparaten i denna grupp observerades en måttlig förekomst av inflammatoriska celler i endometriet. De inflammatoriska cellerna täckte uppskattningsvis mindre än hälften av endometriets yta. I vissa preparat observerades perivaskulära inflammatoriska celler i myometriet och enstaka celler utspridda i myometriets stroma. I samtliga preparat återfanns ödem och blödningar i endometriet och i flera fall var även myometriet ödematöst. Endometrieepitelet var nekrotiskt och i en del preparat återfanns fibros. I gruppen med kraftig inflammation placerades 14 av tikarna. Hos dessa individer täcktes uppskattningsvis mer än hälften av endometriets yta av inflammatoriska celler. I myometriet sågs perivaskulära inflammatoriska celler samt en lindrig-kraftig infiltration av inflammatoriska celler mellan muskelcellerna. Endometrieepitelet och körtelepitelet var kraftigt ulcererat. Blödningar och ödem fanns genomgående i samtliga preparat och samtliga lager av livmodern. Fibros observerades i en del preparat. Alla tikar med plasmacellsdominerad inflammation har inflammationsgrad 2 eller 3 och detta gäller även för alla utom en av de individerna med en purulent inflammation. Endast hos en individ med lymfocytdominerad inflammation i endometriet observerades en måttlig inflammation och inga av dessa hade en kraftig inflammation.

Grad av CEH

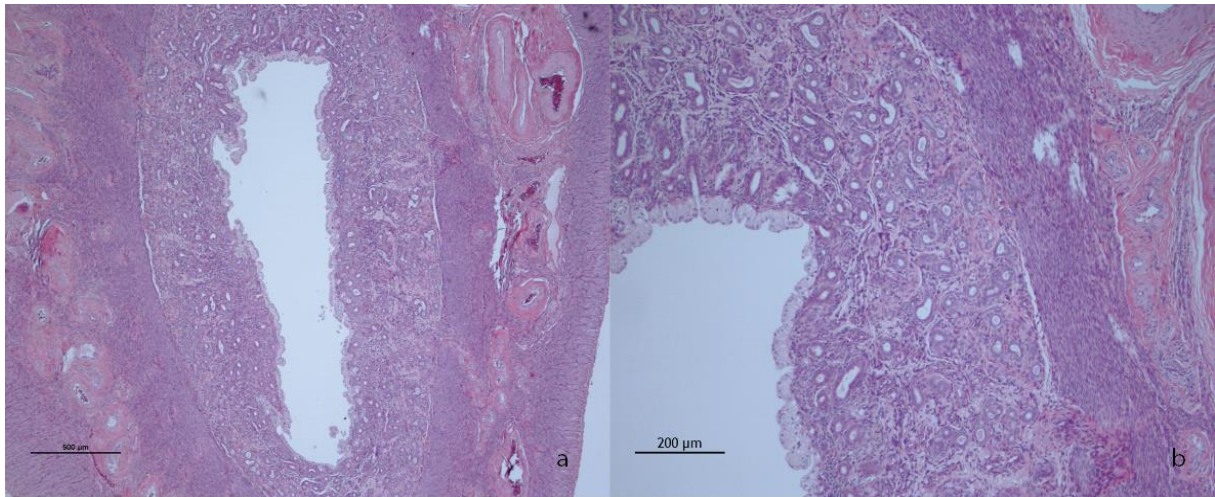
Graden av CEH har även denna kategori delats in i fyra grupper; ingen, lindrig, måttlig och kraftig CEH. I Tabell 1 benämns dessa grupper CEH-grad 0-3. I första gruppen, som benämns CEH-grad 0, placerades 10 individer. I dessa preparat observerades inga dilaterade körtlar och antalet körtlar i endometriet bedöms som normalt eller färre än förväntat. Alla fyra kontrollhundar som inte hade tecken på klinisk sjukdom innan operationen återfanns i denna grupp. Nio tikar ingick i gruppen med lindrig CEH och dessa hade antingen en lindrigt ökad mängd körtlar i endometriet eller enstaka dilaterade körtlar. I gruppen med måttlig CEH ingick

11 individer och hos dessa observerades en tydligt ökad mängd körtlar i endometriet varav flera var markant dilaterade. 15 av tikarna bedömdes ha kraftig CEH och i dessa preparat fanns endast mycket lite stroma kvar i endometriet. Det fanns en kraftigt ökad mängd körtlar och de flesta av körtlarna var mer eller mindre dilaterade. Endometriets främsta beståndsdel i dessa preparat var körtellumen. De olika graderna av CEH återfanns vid alla typer av inflammation vilket också kan ses i Tabell 1. En trend som noterades var att många preparat med måttlig-kraftig inflammation också hade måttlig-kraftig CEH. Dock noterades också att en individ med inflammationsgrad 0 och en individ med inflammationsgrad 1 hade CEH-grad 3 i endometriet samt att en individ med inflammationsgrad 3 hade CEH-grad 0 i endometriet.

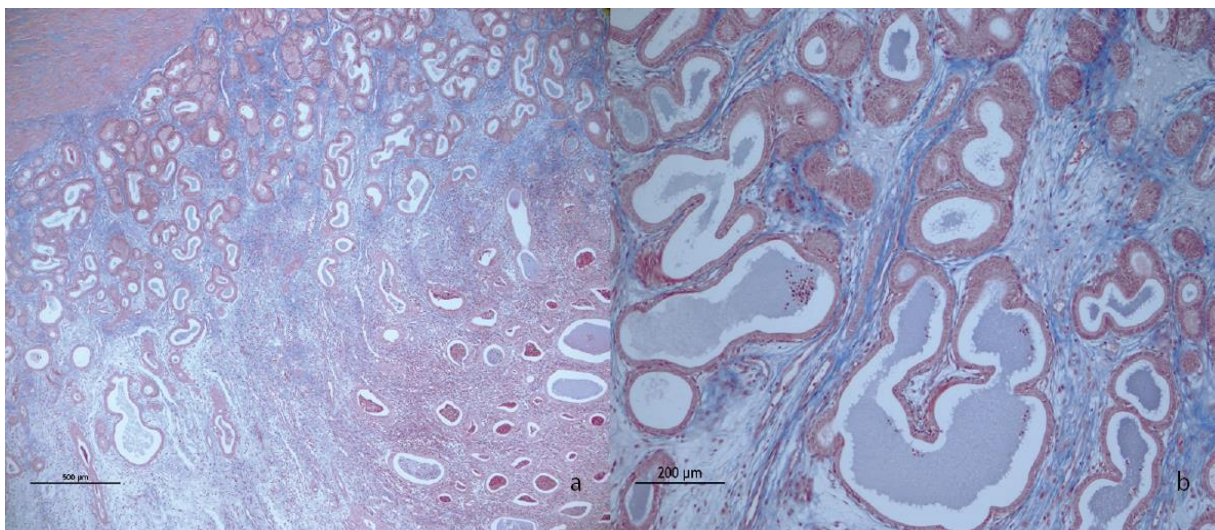
Peritonit

Denna kategori delades bara in i två grupper då det som studerades var om det fanns tecken på peritonit eller inte. I de histologiska snitten från 20 av tikarna hittades inga tecken på peritonit. Samtliga tikar som saknar tecken på inflammation i livmodern återfinns i denna grupp samt alla individer med lymfocytär inflammation utom en. Totalt uppvisade 23 av tikarna tecken på peritonit vid den histologiska studien. Hos vissa individer sågs endast lindriga tecken så som en lindrig förekomst av neutrofiler och fibrin utanför livmoderns serosa medan det hos andra återfanns sjuk av bakterier och kraftiga neutrofilansamlingar. Endast en av individerna med tecken peritonit hade lymfocytdominerad inflammation i livmodern medan de resterande 22 individerna bedömdes ha antingen plasmacellsdominerad eller neutrofil inflammation.

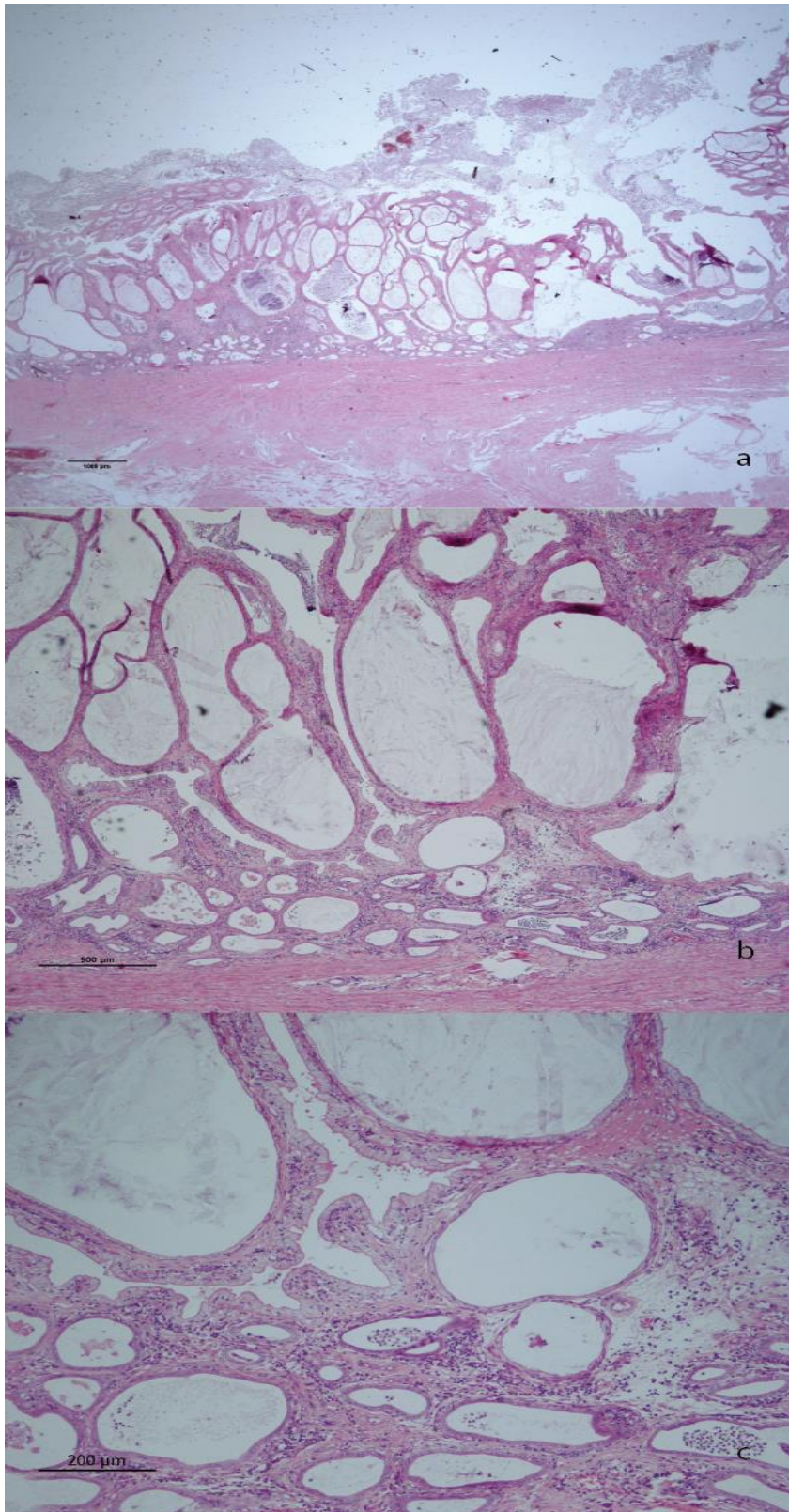
Ingen (0 %) av tikarna med inflammationsgrad 0 i endometriet hade tecken på peritonit medan samma siffra för tikarna med inflammationsgrad 1 var 12,5 %. Av tikarna med inflammationsgrad 2 och 3 hade 80 % respektive 71,4 % tecken på peritonit. Trenden som noterades här var att en måttlig-kraftig inflammationsgrad i livmodern i högre grad kunde korreleras med tecken på peritonit än hos individer där inflammationsgraden var lindrig eller det inte finns någon inflammation alls. För grad av CEH hade 0 % av individerna med CEH-grad 0, 71,4 % av dem med CEH-grad 1, 63,6 % av dem med CEH-grad 2 och 73,3 % av dem med CEH-grad 3 tecken på peritonit.



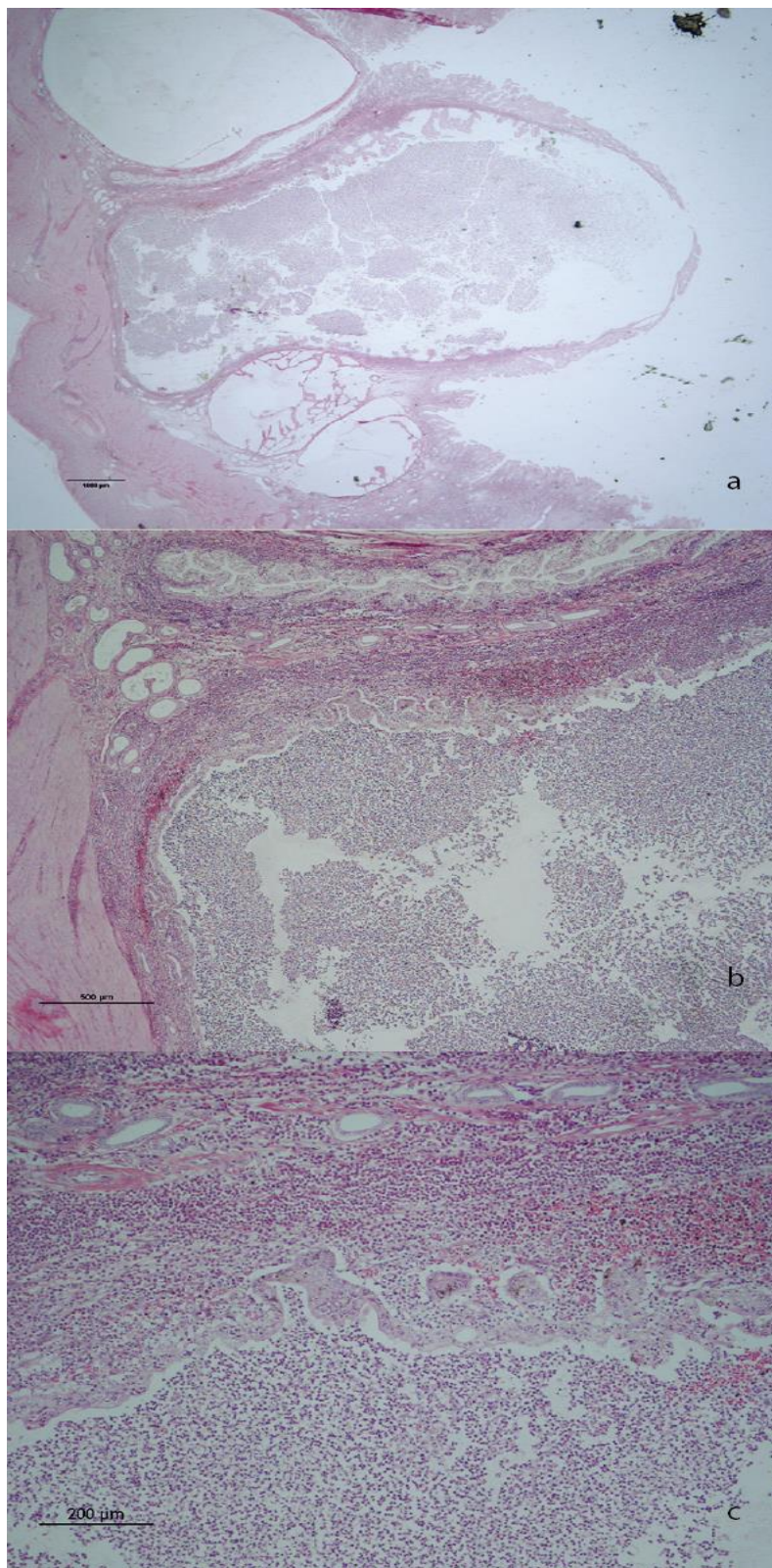
Figur 1. Histologiska snitt från en hundlivmoder i olika förstoring med hematoxylin och eosinfärgning. a) Livmoder utan cystisk endometriehyperplasi (CEH-grad 0) med en lindrig inflammation i endometriet (inflammationsgrad 1). b) Normala endometriekörtlar utan tecken på hyperplasi, hypertrofi eller cystbildning (CEH-grad 0). Ett fåtal lymfocyter kan observeras i endometriet (inflammationsgrad 1). Purulent exsudat kan ej observeras i lumen.



Figur 2. Histologiska snitt från en hundlivmoder i olika förstoring med Masson-Trichromefärgning. a och b) Fibros noterades i både myometriet och endometriet. Detta preparat bedömdes ha en lindrig grad av cystisk endometriehyperplasi (CEH-grad 1) samt en måttlig inflammationsgrad (inflammationsgrad 2) i endometriet. I körtellumen observerades mukus och purulent exsudat.



Figur 3. Histologiska snitt från en hundlivmoder i olika förstoring med hematoxylin och eosinfärgning. a och b) Detta preparat bedömdes ha en kraftig cystisk endometriehyperplasi (CEH-grad 3). Endometriet består till största delen av körtellumen. I livmoderlumen ses rikligt med purulent exsudat. c) Inflammationsgraden i endometriet bedömdes som måttligt (inflammationsgrad 2) och purulent exsudat kan observeras i en del körtellumen.



Figur 4. Histologiska snitt från livmodern hos en ovariohysterektomerad tik i olika förstoring med hematoxylin och eosinfärgning. a) Detta preparat bedömdes ha en måttlig grad av cystisk endometriehyperplasi (CEH-grad 2). Överst och centralt i bilden ses kraftigt dilaterade endometrie-körtlarna medan det i nedre delen av bilden ses mer normal endometrievävnad. b och c) Preparatet bedömdes ha en kraftig inflammation i endometriet (inflammationsgrad 3) och en mycket kraftig infiltration av neutrofiler ses i endometrievävnaden. Rikligt med purulent exsudat observeras körtellumen.

Tabell 1. Tabellen illustrerar antal tikar med respektive typ av inflammation i endometriet; Ingen inflammation, lymfocytdominerad inflammation (Lymfocyter), plasmacellsdominerad inflammation (Plasmaceller) och neutrofil inflammation (Neutrofiler) samt inflammationsgrad i endometriet, grad av cystisk endometriehyperplasi och tecken på peritonit hos dessa individer vid histologisk undersökning av livmödrarna.

Grad 0 = total frånvaro, grad 1 = lindrig, grad 2 = måttlig och grad 3 = kraftig

		Ingen inflammation (n=6)	Lymfocyter (n=8)	Plasmaceller (n=11)	Neutrofiler (n=15)
Inflammations-grad	0	6	-	-	-
	1	-	7	-	1
	2	-	1	4	10
	3	-	-	7	7
CEH-grad	0	5	4	-	1
	1	-	2	1	4
	2	-	1	4	6
	3	1	1	6	7
Peritonit	Ja	-	1	9	13
	Nej	6	7	2	5

Kliniska data

En sammanställning av medelvärde och standardavvikelse för kroppstemperatur, LPK och CRP har beräknats för respektive grupp i kategorierna inflammationsgrad, grad av CEH och förekomst av tecken på peritonit och kan ses i Tabell 2. I tabellen presenteras också andelen tikar med bakteriemi i respektive kategori av histologisk morfologi.

Kroppstemperatur

Kroppstemperatur uppmättes hos 40 av de 43 tikarna som ingick i studien. Den lägsta kroppstemperaturen som uppmättes var 37,4°C och den högsta var 40,1°C. Vid ankomst till UDS hade 37,8 % av tikarna med misstänkt pyometra en förhöjd kroppstemperatur. Ingen (0 %) av de fyra friska kontrollhundarna hade en kroppstemperatur på över 39°C.

I studien påvisades ingen statistisk signifikant skillnad av kroppstemperatur mellan några grupper i någon av kategorierna.

Leukocytpartikelkoncentration

LPK analyserades hos samtliga tikar och resultaten varierade mellan $4,3 \times 10^9/L$ och $39,9 \times 10^9/L$. Då ett resultat bedömdes vara orimligt högt ($106,4 \times 10^9/L$) har detta resultat exkluderats ur studien. 35,7 % av de 43 tikarna hade ett LPK inom den normala variationen för hund ($5,2$ – $14,1 \times 10^9/L$). 54,8 % av tikarna hade en förhöjd LPK och 9,5 % av tikarna hade en LPK som var lägre än normalvariationen.

Inflammationsgrad

En one-way ANOVA-analys visade att det förelåg en skillnad mellan minst två av de olika inflammationsgradernas LPK ($p=0,022$). Med hjälp av vidare analys med Tukey's HSD test kunde fastställas att signifikanta skillnader förelåg mellan grupperna inflammationsgrad 0 och 3 ($p=0,04$), 1 och 2 ($p=0,02$) samt 1 och 3 ($p=0,002$). De tikar med högre inflammationsgrad i endometriet hade i samtliga av dessa fall högre LPK än de tikar med lägre inflammationsgrad.

Grad av CEH

Det förelåg ingen skillnad i LPK mellan grupperna CEH-grad 0, 1, 2 och 3 ($p=0,17$, One-way ANOVA-analys).

Peritonit

LPK var signifikant högre hos de tikar som hade tecken på peritonit jämfört med hos de tikar som inte uppvisade några tecken på peritonit ($p=0,00022$, Student's T-test).

C-reaktivt protein

C-reaktivt protein koncentrationer uppmättes hos 42 av de 43 tikarna. Resultaten varierade mellan <5 och 370 mg/L . Hos 28 av 42 tikar (66,7 %) uppmättes CRP koncentrationer som översteg clinical decision limit (21 mg/L), vilket tyder på att sjukdomen hos dessa individer inducerat systemisk inflammation av betydelse.

Inflammationsgrad

En one-way ANOVA-analys visade att det fanns en skillnad i CRP-koncentrationer mellan minst två av de olika inflammationsgraderna ($p=0,0008$). Skillnaderna förelåg mellan inflammationsgrad 0 och 3 ($p=0,0095$), 1 och 2 ($p=0,0286$) samt 1 och 3 ($p=0,0034$). De tikar med högre inflammationsgrad i endometriet hade i samtliga av dessa fall högre CRP-koncentration än de tikar med lägre inflammationsgrad.

Grad av CEH

Enligt one-way ANOVA-analys påvisade en skillnad i CRP-koncentrationer mellan minst två av de olika CEH-graderna ($p=0,027$). Vidare analys med hjälp av ett Tukeys's HSD test visade att den enda skillnaden i CRP-koncentration som förelåg var mellan CEH-grad 0 och CEH-grad 3 ($p=0,027$). CRP-koncentrationen hos de tikar med CEH-grad 3 var signifikant högre än CRP-koncentrationen hos tikar med CEH-grad 0.

Peritonit

Enligt Students t-test hade tikarna med histologiska tecken på peritonit signifikant högre CRP-koncentration än tikarna utan tecken på peritonit ($p=0,00003$).

Bakteriemi

Bakterieodling från blod utfördes åren 2011 och 2017, varför detta resultat finns redovisat för 23 av de 43 tikarna som ingår i denna studie.

Ingen av tikarna som saknade inflammation i endometriet hade bakteriemi. Detsamma gällde tikarna med lymfocytdominerad inflammation. Av tikarna med neutrofil inflammation hade 14,3 % positiv bakterieväxt i blodet vid odling. 42,9 % av tikarna med plasmacellsdominerad inflammation hade bakteriemi. Inga av tikarna med inflammationsgrad 0 samt 1 i endometriet hade positiv bakterieväxt vid blododling medan 17 % av tikarna med inflammationsgrad 2 och 33,3 % av de med inflammationsgrad 3 hade bakteriemi. 44,4 % av tikarna med CEH-grad 3 hade bakteriemi medan tikarna med CEH-grad 0-2 samtliga hade negativt resultat. Av de hundar som hade histologiska tecken på peritonit hade 30 % bakteriemi medan 8,3 % av de hundarna utan tecken på peritonit hade bakteriemi.

Tabell 2. Medelvärden och för kroppstemperatur, LPK och CRP samt andel med bakteriemi hos tikarna i de olika grupperna inom kategorierna inflammationsgrad, grad av cystisk endometriehyperplasi och peritonit

Inflammationsgrad	Kroppstemperatur (°C)	Leukocytpartikelkoncentration (x 10 ⁹ /L)	C-reaktivt protein (mg/L)	Bakteriemi (%)
0	38,4 +/- 0,6	11,2 +/- 5,6	51+/-56	0
1	38,6 +/- 0,3	8,4 +/- 4,6	49+/-73	0
2	38,7 +/- 0,7	19,2 +/- 9,5	192+/-100	17
3	38,9 +/- 0,6	22,4 +/- 7,9	220+/-106	33,3
Cystisk endometriehyperplasi	Endo-Kroppstemperatur (°C)	Leukocytpartikelkoncentration (x 10 ⁹ /L)	C-reaktivt protein (mg/L)	Bakteriemi (%)
0	38,6 +/- 0,7	9,8 +/- 4,9	55 +/- 87	0
1	38,9 +/- 0,7	17,8 +/- 12,4	141+/-132	0
2	38,9 +/- 0,6	21,0 +/- 7,5	187+/-102	0
3	38,7 +/- 0,6	18,8 +/- 9,0	190+/-125	44,4
Peritonit	Kroppstemperatur (°C)	Leukocytpartikelkoncentration (x 10 ⁹ /L)	C-reaktivt protein (mg/L)	Bakteriemi (%)
Nej	38,6 +/- 0,7	11,9 +/- 6,9	72 +/- 86	8,3
Ja	38,9 +/- 0,6	21,8 +/- 9,2	209+/-109	30

DISKUSSION

Peritonit

Ett syfte med denna histologiska studie var att undersöka förekomsten av tecken på peritonit hos tikar med misstänkt pyometra vilket tidigare inte studerats. Totalt visade resultaten att histologiska tecken på peritonit förekom hos 59 % av tikarna med pyometra. Denna andel är betydligt högre än vad som rapporterats vid kliniska studier där man observerat att 12,4 % av tikar med pyometra drabbas av peritonit (Jitpean *et al.*, 2014). En teori om varför siffrorna skiljer sig åt är att mikroskopiska tecken på peritonit kan detekteras i ett tidigare stadie än kliniska tecken på peritonit. Tidigare upptäckt av peritonit kan medföra snabbare insättning av korrekt behandling och därmed förbättra prognosen för tikar som drabbas. Då peritonit är en mycket allvarlig komplikation till pyometra som resulterar i förlängd vistelse på djursjukhus samt har en mortalitet som är 26 gånger högre än hos tikar med pyometra utan peritonit, är detta fynd av yttersta relevans (Jitpean *et al.*, 2014; Jämtner, 2018).

I denna studie sammanställdes ett antal kliniska data och eventuella samband mellan variablerna och histologiska fynd undersöktes. Resultaten visar att CRP-koncentration kan vara en möjlig markör för tidig detektion av peritonit hos tikar med pyometra eftersom CRP-koncentrationen hos dessa är högre än hos individerna utan tecken på peritonit. Skillnaden mellan dessa grupper medelvärden var höggradigt signifikant ($p=0,00003$) och tyder på att hos tikar med högre CRP-koncentrationer preoperativt är sannolikheten större för att de utvecklar peritonit. Även leukocytpartikelkoncentrationen kunde korreleras till histologiska tecken på peritonit. Liksom med CRP-koncentrationen har tikar med histologiska tecken på peritonit högre LPK än tikar utan tecken på peritonit och därmed skulle även LPK kunna ha kliniskt värde som markör för tidig detektion av peritonit.

Med tanke på möjligt värde av tidig diagnos av peritonit kan det övervägas att inkludera analys av CRP-koncentration och LPK bland de parametrar som vanligen analyseras vid misstanke om pyometra. Om tiken inte återhämtar sig som förväntat efter operation kan värdena följas upp och vid ytterligare förhöjda värden kan ultraljudsundersökning betänkas för att utesluta att tiken drabbats av peritonit. Möjligtvis är CRP-koncentration är att föredra framför LPK då LPK kan sjunka i och med en utarmning av kroppens neutrofiler (neutropeni) och på så sätt ge ett falskt normalt värde innan leukopeni observeras.

Trots dessa resultat så är det mycket viktigt att betänka att CRP-koncentration och LPK stiger vid alla typer av inflammation i kroppen och inte endast vid peritonit. Ett förhöjt värde kan bero på operationen i sig eller att tiken drabbats av någon annan sjuklighet. Man ska därför vara försiktig och betänka att det finns många andra möjliga orsaker än peritonit till förhöjd CRP-koncentration och LPK om en tik som behandlats kirurgiskt för pyometra får förhöjda värden.

Denna studie omfattar data från tikar som insamlats och provtagits under flera olika år, och för andra studier än denna, vilket medförde att mer än en analysmetod användes för att mäta cirkulerande CRP-koncentrationer, och att metoderna inte är exakt jämförbara. Det bör noteras att detta ökar risken för felkällor i studien. Om liknande studier utförs i framtiden är det bättre

att endast använda sig av en analysmetod för att ge mer precisa resultat och högre tillförlitlighet till resultaten av jämförelser.

Inflammationsgrad och grad av CEH

I denna studie har man också kunnat påvisa att både LPK och CRP-koncentrationer är signifikant högre hos tikar med måttlig till kraftig inflammation i livmodern jämfört med de tikar med lindrig inflammationsgrad samt de utan inflammation. Skillnad för LPK och CRP-koncentration kunde identifieras mellan inflammationsgrad 0 och 3, 1 och 2 samt 1 och 3. Slutsatsen av detta blir alltså att tikar med högre LPK och CRP-koncentration kan antas ha en kraftigare inflammation i livmodern. I och med denna studie kan det sägas att inflammationsgrad i endometriet kan korreleras till vissa kliniska data.

Inflammationsgraden i livmodern kunde också korreleras till tecken på peritonit hos tiken vid histologisk undersökning av livmodern. Hos tikarna med måttlig respektive kraftig livmoderinflammation hade 80 % respektive 71,4 % histologiska tecken på peritonit jämfört med endast 12,5 % hos de med inflammationsgrad 1 och 0 % hos de med inflammationsgrad 0.

Ett annat syfte i denna studie vara att undersöka sambandet mellan inflammationsgrad och grad av CEH. Generellt så hade tikarna med måttlig till kraftig inflammation i endometriet också måttlig till kraftig CEH. I de preparat där ingen eller lindrig CEH påträffades var generellt även inflammationen i endometriet lindrig eller obefintlig. Man kan alltså misstänka att tillstånden är kopplade till varandra då det var ovanligt att det ena tillståndet förekom utan att det andra tillståndet också observerades vilket stödjer Dows (1958) teori om ett CEH-pyometrakomplex. I studien noterades dock att en tik med CEH-grad 3 helt saknade inflammatorisk reaktion i endometriet samt att en individ med inflammationsgrad 3 samtidigt hade CEH-grad 0. Detta stödjer De Bosschere *et al.* (2000) slutsatser om att CEH och pyometra är två olika tillstånd som kan uppstå separat. Denna studie stödjer till vissa delar både Dows (1958) och De Bosschere *et al.* (2000) slutsatser. Eftersom att denna studie kunnat konstatera att CEH och pyometra kan uppstå enskilt blir slutsatsen dock, i likhet med De Bosschere *et al.* (2000), att CEH och pyometra är två skilda tillstånd och ej två delar av ett och samma sjukdomskomplex.

I studien fann man även ett samband mellan grad av CEH och CRP-koncentration. Den signifikanta skillnaden som förelåg var mellan CRP-koncentrationen hos tikar med CEH-grad 0 och CEH-grad 3 ($p=0,027$). Förväntningen innan studien företogs var att man inte skulle hitta någon korrelation mellan kliniska data och grad av CEH då CEH i sig oftast är en subklinisk sjukdom som inte är associerad med inflammation (Hagman *et al.*, 2006). Anledningen till att tikar med CEH-grad 3 har högre CRP-koncentrationer än tikar med CEH-grad 0 kan antas bero på att tikar med inflammationsgrad 2 och 3 i endometriet också tenderar att ha CEH-grad 2 eller 3. Tikar med kraftig inflammation i endometriet har, liksom studien visat, generellt sett högre CRP-koncentration än tikar med lindrig/ingen inflammation och tikar med kraftig inflammation i endometriet har generellt sett också högre grad av CEH. Detta innebär att sambandet som ses mellan CEH och CRP-koncentration kanske i förlängningen mer bör tolkas som ett samband mellan CRP-koncentration och inflammationsgrad.

Bakteriemi

En trend som observerades i denna studie var att plasmacellsdominerad inflammation, kraftigare inflammation, högre grad av CEH och förekomst av tecken på peritonit förefaller öka förekomsten av bakteriemi hos tikar med pyometra. Vid framtida studier inom detta område bör blod dock insamlas vid fler tillfällen än ett för att lättare kunna bedöma eventuella kontaminationer. Vidare utredning av detta kan ha stor klinisk betydelse då man i en studie av Dow, Curtis, Jones & Wingfield (1989) påvisat att det är 10 gånger högre mortalitet hos djur med allvarlig sjukdom och bakteriemi än hos djur med endast allvarlig sjukdom.

Inflammationstyp

I den histologiska delen av denna studie noterades främst tre inflammatoriska celltyper, i olika mängd och sammansättning, i endometriet - lymfocyter, plasmaceller och neutrofiler. De lymfocytdominerade preparaten hade i sju av åtta fall endast en lindrig inflammation och endast lindrig mängd eller inget purulent exsudat återfanns i livmoderlumen. Dow (1958) beskriver till stor del preparaten i grupp 2 i sin studie på väldigt liknande sätt. Den enda avvikelser mellan grupperna i våra respektive studier, som dock är betydande, är att Dow (1958) i sin studie funnit plasmaceller i endometriet istället för lymfocyter. Troligen har detta begränsad klinisk betydelse men observationen är ändå av intresse. Frågan som föreligger är om det i Dows (1958) studie funnits en typ av livmoderinflammation hos tik som inte påträffats i denna studie eller om vår bedömning av celltyper skiljt sig.

Kroppstemperatur

I studien upptäcktes att kroppstemperaturen hos tikarna inte gick att korrelera till någon av de histologiska fynd som gjorts. Ingen signifikant skillnad sågs mellan kroppstemperatur och någon av grupperna i kategorierna inflammationsgrad, grad av CEH och förekomst av tecken på peritonit. I och med detta kan sägas att kroppstemperaturen är ett ospecifikt mått som inte har någon korrelation till den histologiska morfologin i livmodern hos tikar med pyometra.

Avvikande fynd

En individ i studien som genomgick OHE för misstänkt livmoderpatologi hade vid den histologiska undersökningen inga tecken på inflammation i endometriet. Denna individ hade dock 217 mg/L i CRP, $22,2 \times 10^9/L$ i LPK och $39,7^\circ C$ i kroppstemperatur preoperativt vilket starkt indikerar att hunden hade någon form av sjuklighet associerad med systemisk inflammation. Eftersom att den histologiska undersökningen visar att tiken inte led av livmoderinflammation måste det antas att någon annan sjukdom orsakat de avvikande värdena. Detta styrker De Bosschere *et al.* (2000) slutsats om att det kan vara mycket svårt att diagnostisera pyometra enbart med hjälp av kliniska sjukdomstecken och kliniska data och att flera andra sjukdomar kan orsaka liknande sjukdomsbild.

Histologisk morfologi

Gruppindelningen i de olika kategorierna är gjord efter en bedömning av en enskild person. För framtida studier bör man betänka att använda sig av mer objektiva metoder för att säkerställa att resultaten blir så korrekta som möjligt. Ett sätt att åstadkomma detta är att liksom

De Bosschere *et al.* (2000) använda sig av morfometriska mätmetoder vid den histologiska bedömningen.

KONKLUSION

Denna studie har studerat den histologiska morfologin av livmodern hos tikar och dess relation till viss utvald klinisk data. I och med studien har det påvisats att viss klinisk data kan vara till hjälp vid differentieringen av allvarlighetsgraden av pyometra hos tikar. CRP-koncentration och LPK har visats kunna fungera som viktiga markörer för tidig detektion av peritonit och kan även hjälpa till att urskilja en kraftig livmoderinflammation från en av lindrigare grad. Resultaten är betydande då det i praktiken innebär att det kan bli lättare för kliniker att förutsäga prognos och att vid behov sätta in adekvat behandling tidigt i sjukdomsförloppet vilket möjligen skulle kunna minska mortaliteten hos drabbade individer.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Bakgrund

Pyometra och cystisk endometriehyperplasi (CEH) är två tillstånd som kan drabba livmodern hos okastrerade tikar. Pyometra är en allvarlig sjukdom med flera allvarliga komplikationsrisker varav den vanligaste är peritonit, eller vardagligt talat bukhinneinflammation. Obehandlad kan pyometra leda till döden. Vid CEH å andra sidan blir tikarna sällan sjuka och tillståndet behöver inte behandlas akut. I denna retrospektiva studie undersöks livmödrar från ett flertal tikar, både friska och med pyometra och CEH, under ljusmikroskop. Syftet är att beskriva utseendet hos livmödrarna och undersöka om finns något samband mellan pyometra och CEH. Studien syftar också till att ta reda på hur vanligt det är med peritonit hos tikar med pyometra. I den andra delen av studien undersöks om de finns något samband mellan livmödrarnas utseende och viss klinisk data (kroppstemperatur, leukocytpartikelkoncentration (LPK), C-reaktivt protein (CRP) och förekomst av bakterier i blodet).

Pyometra är en vanligt förekommande sjukdom hos medelålders till äldre tikar. I Sverige drabbas ca en femtedel av alla okastrerade tikar av sjukdomen innan 10 års ålder. Pyometra översätts ordagrant till varfylld livmoder och sjukdomen är förknippad med både inflammation och infektion av livmodern. Sjukdomen är mycket allvarlig och vid misstanke bör akuta åtgärder implementeras. Pyometra behandlas vanligen genom kastration där både livmoder och äggstockar kirurgiskt avlägsnas. Peritonit är den vanligaste komplikationen vid pyometra och är förknippad med både längre vistelse på djursjukhus och högre dödlighet för de drabbade tikarna.

Ett annat vanligt förekommande tillstånd hos okastrerade tikar är CEH. Vid CEH bildas det en varierande mängd cystor i livmodern men tillståndet anses inte vara förknippat med vare sig inflammation eller infektion. CEH i sig ger oftast inga kliniska sjukdomstecken och kräver ingen akut behandlingsåtgärd. Ibland kan det hos tikar med CEH ansamlas steril vätska i livmodern och tillståndet kallas då mucometra (slem i livmodern), hydrometra (vattentunn vätska i livmodern) eller hemometra (blod i livmodern) beroende på vätskans innehåll. Det är vanligt att pyometra och CEH förekommer samtidigt i livmodern och mycket tyder på att CEH kan öka risken för att pyometra ska utvecklas. Vissa forskare menar till och med att pyometra och CEH skulle vara delar av ett och samma sjukdomskomplex - det så kallade CEH-pyometrakomplexet.

Material och metoder

I studien ingick 43 tikar, båda friska hundar och hundar som har diagnostiserats med pyometra. Samtliga kastrerades enligt gängse metod. Livmödrarna samlades in och preparerades för att kunna studeras under ljusmikroskop. Samtliga livmödrar bedömdes gällande deras utseende i kategorierna; typ av inflammation, grad av inflammation, grad av CEH och förekomst av tecken på peritonit.

Innan tikarna kastrerades uppmättes också deras kroppstemperatur och blod samlades in. De blodanalyser som ingick i denna studie var C-reaktivt protein (CRP) och leukocytpartikelkoncentration (LPK). CRP, som även kallas snabbsänka, mäter nivå av inflammation i kroppen. LPK mäter mängden vita blodkroppar i blodet som även dessa stiger vid inflammation och infektion. Man undersökte också om det fanns förekomst av bakterier i blodet, ett tillstånd som

kallas bakteriemi. Slutligen undersöktes om det fanns något samband mellan de ljusmikroskopiska fynden och den utvalda kliniska datan.

Resultat och diskussion

Enligt författarens kännedom har ingen tidigare studie undersökt förekomsten av peritonit med ljusmikroskop hos tikar med pyometra. I denna studie upptäcktes förekomst av peritonit hos 59 % av tikar med pyometra vilket är en mycket högre andel än de 12,4 % som tidigare rapporterats i kliniska studier. En teori om varför siffrorna skiljer sig åt är att mikroskopiska tecken på peritonit kan detekteras i ett tidigare stadie än kliniska tecken på peritonit.

I denna studie sammanställdes också ett antal kliniska data och eventuella samband mellan dessa och de ljusmikroskopiska fynden undersöktes. Resultaten visar att CRP-koncentrationen i blodet var signifikant högre hos tikar med pyometra och samtidig peritonit än hos de individer med pyometra utan samtidig peritonit. Även LPK kunde i studien påvisas ha ett samband till peritonit. Liksom med CRP-koncentrationen hade tikar med tecken på peritonit högre LPK än tikar utan tecken på peritonit. Detta skulle kunna innebära att CRP-koncentration och LPK kan användas som markörer för tidig detektion av peritonit hos tikar med pyometra. Det är dock viktigt att notera att CRP-koncentration och LPK stiger vid alla typer av inflammation och inte nödvändigtvis behöver orsakas av peritonit.

Tidigare upptäckt av peritonit kan medföra snabbare insättning av korrekt behandling och därmed förbättra prognosen för tikar som drabbas. Då peritonit är en mycket allvarlig komplikation till pyometra som resulterar i förlängd vistelse på djursjukhus samt har en dödlighet som är 26 gånger högre än hos tikar med pyometra utan peritonit, är detta fynd av yttersta relevans.

I denna studie har man också kunnat påvisa att både LPK och CRP-koncentrationer är signifikant högre hos tikar med kraftig inflammation i livmodern jämfört med de tikar med lindrig inflammationsgrad samt de utan inflammation. Detta innebär att LPK och CRP-koncentration även kan vara möjliga markörer för att förutsäga allvarlighetsgraden av en pyometra. Det kunde även konstateras att det fanns ett samband mellan inflammationsgraden i livmodern och tecken på peritonit. Hos tikar med måttlig eller kraftig inflammation i livmodern hade cirka 76 % tecken på peritonit medan andelen med peritonit av de tikar med lindrig eller ingen inflammation endast var cirka 6,3%.

Ett annat syfte med denna studie var att undersöka sambandet mellan inflammationsgrad i livmodern hos tikar med pyometra och graden av CEH. En tydlig trend som observerades var att tikar med kraftigare inflammationsgrad i livmodern också oftare hade en kraftigare grad av CEH. De tikar med lindrig eller ingen inflammation i livmodern tenderade likaledes att oftare ha en lindrig eller ingen CEH. Detta fynd tyder på att det finns en koppling mellan tillstånden. I studien noterades dock att en tik som inte hade några tecken på inflammation i livmodern samtidigt hade en kraftig grad av CEH samt att en individ med kraftig inflammation i livmodern inte hade några tecken på CEH. Detta fynd visar att pyometra och CEH är två separata tillstånd som kan uppstå var för sig och de bör således ej sägas vara två delar av ett och samma sjukdomskomplex.

En trend som observerades i denna studie var att kraftigare inflammation, högre grad av CEH och förekomst av tecken på peritonit förefaller öka förekomsten av bakteriemi hos tikar med pyometra. Vidare utredning av detta kan ha stor klinisk betydelse då man tidigare påvisat att djur med bakteriemi och samtidig allvarlig sjukdom har 10 gånger högre dödlighet än djur med allvarlig sjukdom men ingen bakteriemi. Om bakteriemi upptäcks tidigt har man större chans att sätta in rätt behandling och förhoppningsvis minska dödligheten hos djuren som drabbas.

I studien upptäcktes att kroppstemperaturen hos tikarna inte gick att korrelera till någon av de ljusmikroskopiska fynd som gjordes. I och med detta kan sägas att kroppstemperaturen är ett ospecifikt mått som inte kan användas för att förutsäga grad av inflammation, grad av CEH eller peritonit hos tikar med pyometra.

Sammanfattningsvis kan det konstateras att denna studie framkommit med resultat som möjligen kan vara värdefulla för verksamma kliniker. Det har visats att peritonit är mycket vanligare hos tikar med pyometra än vad som tidigare observerats vid kliniska studier. CRP-koncentration och LPK har tagits fram som möjliga markörer för tidig detektion av peritonit och analyserna kan även hjälpa till att urskilja en kraftig livmoderinflammation från en av lindrigare grad. Resultaten är betydande då det i praktiken innebär att det kan bli lättare för kliniker att förutsäga prognos och att vid behov sätta in adekvat behandling tidigt i sjukdomsförloppet vilket möjligen skulle kunna minska dödligheten hos drabbade tikar.

REFERENSER

- Austad, R., Blom, A. K. & Borrensen, B. (1979). Pyometra in the dog - a pathophysiological investigation. III. Plasma progesterone levels and ovarian morphology. *Nordisk Veterinaermedicin*. 31(6):258-262.
- Barrau, M.D., Abel, J.H., Verhage, H.G., & Tietz Jr, W.J. (1975). Development of the endometrium during the estrous cycle in the bitch. *American Journal of Anatomy*. 142(1): 47-65. doi: 10.1002/aja.1001420105
- Bartoskova, A., Vitasek, R., Leva, L., & Faldyna, M. (2007). Hysterectomy leads to fast improvement of hematological and immunological parameters in bitches with pyometra. *Journal of Small Animal Practice*. 48(10): 564-568. doi: 10.1111/j.1748-5827.2007.00345.x
- Bigliardi, E., Parmigiani, E., Cavirani, S., Luppi, A., Bonati, L., and Corradi, A. (2004). Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals*. 39(3): 136-140. doi: 10.1111/j.1439-0531.2004.00489.x
- Butinar, J., Mujagić, E., & Galac, S. (2004). The estrous cycle in the bitch: a review article. *Slovenian Veterinary Research*. 41(1): 5-11.
- Chaffaux, S. & Thibier, M. (1978). Peripheral plasma concentrations of progesterone in the bitch with pyometra. *Annales de Recherches Vétérinaires*. 9(3): 587-592. HAL Id: hal-00901041
- Coggan, J.A., Melville, P.A., Motos de Oliveira, C., Faustino, M., Moreno, A.M., & Benites, N.R. (2008). Microbiological and histopathological aspects of canine pyometra. *Brazilian Journal of Microbiology*. 39(3):477-483. doi: 10.1590/S1517-83822008000300012
- Concannon P.W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*. 124(3-4):200-210. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.028
- Contri, A., Gloria, A., Carluccio, A., Pantaleo, S., & Robbe, D. (2015). Effectiveness of a modified administration protocol for the medical treatment of canine pyometra. *Veterinary Research Communications*. 39(1): 1-5. doi: 10.1007/s11259-014-9619-9
- Dąbrowski, R., Kostro, K., Lisiecka, U., Szczubiał, M., & Krakowski, L. (2009). Usefulness of C-reactive protein, serum amyloid A component, and haptoglobin determinations in bitches with pyometra for monitoring early post-ovariohysterectomy complications. *Theriogenology*. 72(4): 471-476. doi: 10.1016/j.theriogenology.2009.03.017
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Van Den Broeck, W. & Coryn, M. (2000). Cystic endometrial hyperplasia - pyometra complex in the bitch: should the two entities be disconnected? *Theriogenology*. 55(7):1509-1519. doi: 10.1016/S0093-691X(01)00498-8
- Dhaliwal, G.K., England, G.C.W., & Noakes, D.E. (1999). Oestrogen and progesterone receptors in the uterine wall of bitches with cystic endometrial hyperplasia-pyometra. *Veterinary Record*. 145: 455-457. doi: 10.1136/vr.145.16.455
- Dow, C. (1958). The cystic hyperplasia – pyometra complex in the bitch. *Veterinary Record*. 70(49): 267-278.
- Dow, S.W., Curtis, C.R, Jones R.L. & Wingfield, W.E. (1989) Bacterial culture from blood of critically ill dogs and cats: 100 cases (1985-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 195(1): 113-117.
- Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B.N., Hedhammar, Å., Olson, P., & Lagerstedt A-S. (2001). Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 15(6): 530-538. doi: 10.1111/j.1939-1676.2001.tb01587.x

- Fayrer-Hosken, R.A., Durham, D.H., Allen, S., Miller-Liebl, D.M., & Caudle, A.B. (1992). Follicular cystic ovaries and cystic endometrial hyperplasia in a bitch. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 201(1):107-108.
- Fieni, F. (2006). Clinical evaluation of the use of aglepristone, with or without cloprostenol, to treat cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in bitches. *Theriogenology*. 66(6-7): 1550–1556. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.02.009
- Fieni, F., Topie, E., & Gogny, A. (2014). Medical treatment for pyometra in dogs. *Reproduction in Domestic Animals*. 49(s2): 28-32. doi: 10.1111/rda.12302
- Fransson, B.A., Karlstam, E., Bergström, A., Lagerstedt, A-S., Park, J.S., Evans M.A., & Ragle, C.A. (2004). C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 40(5): 391-399. doi: 10.5326/0400391
- Fransson, B., Lagerstedt, A-S., Hellmén, E., & Jonsson, P. (1997). Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *Transboundary and Emerging Diseases*. 44(1-10): 417-426. doi: 10.1111/j.1439-0442.1997.tb01127.x
- Fossum, T.W., Dewey, C.W., Horn, C.V., Johnsson, A.L., Radlinsky, M.G., Schulz, K.S., MacPhail, C.M., & Willard, M.D. (2013). *Small Animal Surgery*. 4. uppl., Missouri: Elsevier.
- Hadley, J. C. (1975). Unconjugated oestrogen and progesterone concentrations in the blood of bitches with false pregnancy and pyometra. *The Veterinary Record*. 96(25):545-547.
- Hagman, R. (2018). Pyometra in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 48(4): 639-661. doi: 10.1016/j.cvsm.2018.03.001
- Hagman, R. & Greko, C. (2005). Antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. *Veterinary Record*. 157: 193–197. doi: 10.1136/vr.157.7.193
- Hagman, R., Kindahl, H., Fransson, B.A., Bergström, A., StrömHolst, B., & Lagerstedt, A.-S. (2006). Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2 α metabolite analysis. *Theriogenology*. 66(2): 198-206. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.11.002
- Hagman, R., Lagerstedt, A.-S., Hedhammar, Å., & Egenvall, A. (2011). A breed-matched case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. *Theriogenology*. 75(7): 1251-1257. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.11.038
- Hagman, R., Lagerstedt, A.-S., Fransson, B.A., Bergström, A., & Häggström, J. (2007). Cardiac troponin I levels in canine pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 49:6. doi: 10.1186/1751-0147-49-6
- Hardy, R.M. & Osborne, C.A. (1974). Canine pyometra: pathophysiology, diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesions. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 10(3): 245-268.
- Jitpean, S., Ambrosen, A., Emanuelson, U., & Hagman, R. (2017). Closed cervix is associated with more severe illness in dogs with pyometra. *BMC Veterinary Research*. 13(11). doi: 10.1186/s12917-016-0924-0
- Jitpean, S., Hagman, R., Ström-Holst, B., Höglund, O.V., Pettersson, A. & Egenvall, A. (2012) Breed variations in the incidence of pyometra and mammary tumours in Swedish dog. *Reproduction in Domestic Animals*. 47(s6): 347-350. doi: 10.1111/rda.12103

- Jitpean, S., Ström-Holst, B., Emanuelson, U., Höglund, O.V., Pettersson A., Alneryd-Bull, C., & Hagman, R. (2014). Outcome of pyometra in female dogs and predictors of peritonitis and prolonged postoperative hospitalization in surgically treated cases. *BMC Veterinary Research*. 10:6. doi: 10.1186/1746-6148-10-6
- Jämtner, M. (2018). *Prognostiska markörer vid kirurgisk behandling av pyometra hos hund*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2018:02).
https://stud.epsilon.slu.se/13539/7/jamtner_m_180130.pdf
- Kaymaz, M., Baştan, A., Erünel, N., Aslan., & Findik, M. (1999). The use of laboratory findings in the diagnosis of CEH–pyometra complex in the bitch. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 23: 127-133.
- Läkemedelsverket. (2016). Information från Läkemedelsverket. Dosering av Antibiotika till Hund - Behandlingsrekommendation. https://lakemedelsverket.se/upload/om-lakemedelsverket/publikationer/information-fran-lakemedelsverket/2016/Info_fran_LV_vet_suppl_2016.pdf (Hämtad 2018-11-20)
- Maddens, B., Heiene, R., Smets, P., Svensson, M., Aresu, L., van der Lugt, J., Daminet, S., & Meyer, E. (2011). Evaluation of kidney injury in dogs with pyometra based on proteinuria, renal histomorphology and urinary biomarkers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 25(5): 1075–1083. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.0772.x
- Moxon, R., Whiteside, H. & England, G.C.W. (2016). Prevalence of ultrasound-determined cystic endometrial hyperplasia and the relationship with age in dogs. *Theriogenology*. 86(4): 976-980. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.03.022
- Niskanen, M. & Thrusfield, M.V. (1998). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Veterinary Record*. 143(18): 493–498
- Nakamura, M., Takahashi, M., Ohno, K., Koshino, A., Nakashima, K., Setoguchi, A., Fujino, Y., & Tsujimoto, H. (2008). C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. *Journal of Veterinary Medical Science*. 70(2): 127-131. doi: 10.1292/jvms.70.127
- Nelson, R.W. & Feldman E.C. (1986). Pyometra. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 16(3): 561-576. doi: 10.1016/S0195-5616(86)50061-9
- Okano, S., Tagawa, M. & Takase, K. (1998) Relationship of the blood endotoxin concentrations and prognosis in dogs with pyometra. *Journal of Veterinary Medical Sciences*. 60(11): 1265-1267. doi: 10.1292/jvms.60.1265
- Prapaiwan, N., Manee-in, S., Olanratmanee, E. & Srisuwatanasagul, S. (2017). Expression of oxytocin, progesterone, and estrogen receptors in the reproductive tract of bitches with pyometra. *Theriogenology*. 89: 131-139. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.10.016
- Pretzer, S.D. (2008). Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review. *Theriogenology*. 70(3): 359–363. doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.04.028
- Sandholm, M., Vasenius, H., & Kivisto, A.K. (1975). Pathogenesis of canine pyometra. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 167(11): 1006–1010
- Sugiura, K., Nishikawa, M., Ishiguro, K., Tajima, T., Inaba, M., Torii, R., Hatoya, S., Wijewardana, V., Kumagai, D., Tamada, H., Sawada, T., Ikehara, S., & Inaba, T. 2004. Effect of ovarian hormones on periodical changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. *Immunobiology*. 209(8): 619-627. doi: 10.1016/j.imbio.2004.09.003
- Sveriges Veterinärförbund (2009). *AntibiotikapolICY för hund och kattsjukvård*. Sveriges Veterinärförbund.
http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/antibiotika/antibiotikapolICY_2009.pdf

Wildt, D.E., Levinson, C.J., & Seager S.W.J. (1977). Laparoscopic exposure and sequential observation of the ovary of the cycling bitch. *The Anatomical Record*. 189(3): 444-449. doi: 10.1002/ar.1091890305